植物分类学报 33(4):357—361(1995)
Acta Phytotaxonomica Sinica

濒危植物——长喙毛茛泽泻的受精作用及胚和胚乳的发育*

田惠桥　陈家宽　郭友好
(武汉大学生物系,武汉 430072)

THE FERTILIZATION AND THE DEVELOPMENT OF EMBRYO AND ENDOSPERM IN AN ENDANGERED PLANT——*RANALISMA ROSTRATUM* STAPF (ALISMATACEAE)

Tian Hui-qiao　Chen Jia-kuan　Guo You-hao
(*Department of Biology, Wuhan University*, Wuhan 430072)

Abstract *Ranalisma rostratum* Stapf is a rare and endangered species. This paper deals with the fertilization and the development of embryo and endosperm in this plant. The embryogenesis is of Caryophyllad type and the development of endosperm belongs to Helobial type. Before fertilizaton, the two polar nuclei are located respectively at both ends of embryo sac In most angiosperms with two polar nuclei, the polar nuclei may fuse either before fertilization to form a secondary nucleus or during fertilization called triple fusion. In *Ranalisma rostratum* Stapf, however, it is found that only in case when the micropylar polar nucleus is fertilized, it can move to the chalazal end and fuse with the chalazal polar nucleus. This phenomenon is very rare and the process must take more time to fulfil fertilization both polar nuclei. This feature of fusion of polar nuclei is therefore thought as a primitive character from the view of phylogeny.

Key words *Ranalisma rostratum*; Endangered plant; Fertilization; Embryogenesis; Endosperm formation

摘要 长喙毛茛泽泻 *Ranalisma rostratum* Stapf 的配子融合开始较早,但精核与极核融合速度较快。精核与珠孔极核融合后即移向胚囊合点端与另一极核再融合形成初生胚乳核。初生胚乳核第一次分裂后形成两个细胞,以后珠孔端胚乳细胞再进行游离核分裂,胚乳发育属于沼生目型。开花后两天,合子分

* 国家自然科学基金委重大项目"中国主要濒危植物保护生物学研究"课题,项目编号 39391500。
陈中义同志提供实验材料,特此致谢。
1994-07-05 收稿。

裂。八分体呈4层,每层呈两个细胞方式排列,胚胎发生属于石竹型。

关键词 长喙毛茛泽泻; 濒危植物; 受精作用; 胚; 胚乳

长喙毛茛泽泻 *Ranalisma rostratum* Stapf 在研究被子植物的系统发育和演化方面具有重要价值,又是我国主要的濒危植物种之一(王建波等,1993)。由于该种植物在国内的分布区极窄,群体规模很小,因此对其生殖生物学特性迄今未见有详细的研究报道。近两年来,该种植物在江西和湖南少数地点的重新发现(王建波等,1993),为深入进行有关研究提供了可能性。本研究旨在了解该植物生殖特征与其系统发育之间的关系,并对其致濒机制提出参考意见。

1 材料与方法

供试材料源自最近在江西东乡重新发现的长喙毛茛泽泻群体。将部分植株从野外移栽到环境相似的试验地中种植。在盛花期固定开花后不同阶段的雌蕊。固定液为乙醇:醋酸(3:1)液,保存于70%乙醇中。用爱氏苏木精整体染色,常规石蜡切片处理后(切片厚度7—8 μm),进行显微观察和摄影。

2 观察结果

2.1 双受精过程

长喙毛茛泽泻的成熟胚囊为七胞八核结构:在胚囊合点端的3个反足细胞呈退化状态,只有1个合点极核形态清晰。珠孔端的卵器由2个助细胞和1个卵细胞组成,而另一个极核——珠孔极核则紧靠着卵器。两个助细胞位于同一平面,而卵细胞核和珠孔极核稍远离珠孔端、位于同一平面,并于两个助细胞核的排列方向呈交叉状(图版1:1)。因此,在大多数胚囊的珠孔端只能看到卵细胞和珠孔极核及1个助细胞。

长喙毛茛泽泻为珠孔受精,花粉管自珠孔抵达胚囊(图版1:1),穿入一个助细胞并释放出两个精子(图版1:2)。两个精子的移动速度有明显差异:当一个精核接近卵细胞核时,另一个精子似乎仍处在退化助细胞的原来位置(图版1:3),然而精核与珠孔极核的融合过程明显要快,当精核与卵细胞核还未完全融合时,另一精核已完成与珠孔极核的融合并移向胚囊合点端(图版1:5,6)。

2.2 两性核融合

由花粉管中释放出的两个精子,在光镜水平上很难区分出它们的内部结构。但当精核进入卵细胞后,则显示出了清晰的细胞核轮廓:它的体积比卵细胞核小的多,同时可明显区分出核仁、核膜结构(图版1:4)。以后,精核的原有轮廓逐渐消失,精核的染色质分散到卵细胞核内,并与之完全融为一体。与珠孔极核融合的精核则未见呈现出清晰的核轮廓(图版1:5,6),它以一团染色很深的椭圆状附在珠孔极核的核膜上,继而核内物质完全进入到极核内,并在其中扩散(图版1:7)。

毛茛泽泻的极核受精过程在被子植物中是非常罕见的。精核与珠孔极核融合后向胚囊合点端移动(图版1:6,7),并在那里再与合点极核融合,完成三核合并过程。当受精的珠孔极核到达胚囊合点端时,常呈现出含1个核仁、体积较小的合点极核与含两个核仁、

体积较大的受精珠孔极核紧紧相靠的状态(图版 1:8,9,10)。以后,两个核相靠部位的核膜溶解,核内物质溶合,形成初生胚乳核。

在几个开花后两天的小花中,大多数胚珠中的胚囊已形成了二胞原胚;但在个别未受精的胚囊中,珠孔极核仍位于卵器附近,合点极核也仍位于胚囊合点端,两个极核的极性分布非常明显。

卵细胞和胚乳的受精过程约需 1 天的时间完成。

2.3 胚乳的早期发育

长喙毛茛泽泻的胚乳发育为沼生目型。开花后一天,初生胚乳核开始分裂(图版 1:11,12)。其分裂与胚囊纵轴平行,形成横壁,产生两个胚乳细胞(图版 1:13,14)。靠合点端的胚乳细胞较小,而靠珠孔端的较大。这两个胚乳细胞的发育结果完全不同:靠珠孔端的胚乳细胞的细胞核重新移到胚囊珠孔端,开始游离核分裂。靠合点端的胚乳细胞不再分裂,液泡减少,细胞体积也变小。以后,细胞质逐渐变浓,整个细胞及细胞核的体积开始增大,最后形成一个硕大的、染色很深的球状细胞(图版 2:15,16)。

合子分裂后,球状胚乳细胞的细胞质内含物开始充实。随着原胚细胞数目的增加,胚乳细胞的体积逐渐增大,到约 20 个原胚细胞数时,球状胚乳细胞达到了最大体积。以后这种胚乳细胞逐渐退化。

2.4 胚的早期发育

卵细胞受精后,约有 1 天的休眠期。合子第一次分裂为横分裂(图版 2:19),形成 1 个顶细胞和 1 个基细胞(图版 2:20)。顶细胞体积较小,基细胞较大,且高度液泡化,往后它不再分裂,而是随着细胞质内含物逐渐变浓,细胞增大,最后形成 1 个大的胚柄细胞(图版 2:25,26)。顶细胞进行一次横分裂形成 1 个三胞原胚(图版 2:21,22)。接着,三胞原胚的顶端细胞进行 1 次纵分裂,而中间的细胞进行 1 次横分裂(图版 2:23),形成 1 个"T"型五胞原胚(图版 2:24)。五胞原胚中 3 个线形排列的细胞不再分裂,只由顶端的两个细胞进行两次横分裂,形成 4 层、每层 2 细胞的八分体(图版 2:25)。以后,八分体细胞再进行一系列的各方向分裂(图版 2:26),形成球形原胚。根据胚胎发生类型的划分,长喙毛茛泽泻的胚胎发生属石竹型。

在"T"型五胞原胚中,由 3 个直线排列的细胞组成了胚柄。这 3 个细胞在胚的发育中显示出很大的形态差异:由基细胞转变而成的胚柄细胞体积很大,细胞质丰富;由顶细胞衍生的两个胚柄细胞的体积则无明显增加,细胞质内含物也较少,尤其是中间细胞的细胞质明显稀薄,与胚体细胞和顶端胚柄细胞形成了显著的不同。

开花后 15 天时,球形胚开始伸长成长形胚(图版 2:27)。这时有些胚柄细胞仍保留着,有些胚的胚柄已消失。胚乳也由游离核状态形成细胞组织。开花后约 25 天时,胚的侧面开始分化出胚芽原基,呈现出单子叶植物胚分化的特征(图版 2:28)。

3 讨　论

长喙毛茛泽泻的胚胎发生属于石竹型,胚乳发育属沼生目型,这与泽泻科中其他植物的胚胎发生和胚乳发育过程一致(Dahlgren *et al.*, 1982),但作为种的特征,它在胚胎发生的细节上又有所区别。被子植物中,八分体常见的排列方式有两种:(1)8 个细胞分两层

排列，每层4个细胞；(2)8个细胞排列成1层(胡适宜，1982；Bhojwani *et al.*，1979)。然而在长喙毛茛泽泻的胚胎发生中，8个细胞呈4层排列，每层两个细胞。这种特殊的八分体细胞排列方式对研究植物系统发育的价值有待进一步探索。

长喙毛茛泽泻的早期胚乳发育也很独特。在被子植物中，中央细胞的两个极核通常是在受精前融合，但也有不融合的。以受精为标准，可分为两种类型：(1)在受精前，两个极核即融合成次生核；(2)在受精过程中，两个极核中的一个与精核融合，而后再与另一极核融合完成三核融合过程(Willemse *et al.*，1984；Davis，1966；Maheshwari，1950)。在长喙毛茛泽泻中，两个极核一直分别位于中央细胞的两端，只有在珠孔端的极核受精后，才移到胚囊合点端与另一极核融合，可见其极核受精属于后一类型，所不同的是合点端极核始终位于胚囊的合点一端。三核融合后，初生胚乳核在胚囊合点端分裂形成一个具有吸收、分泌功能的腺状细胞，并始终位于胚囊扩展的最先端。而另一个胚乳细胞则将细胞核移到卵器附近进行一系列的游离核分裂。这些特征都是有利于胚囊的营养需求的。

从受精的角度看，极核受精前融合成次生核或两个极核紧密相靠位于卵器附近或悬于中央细胞的中间，显然更有利于受精过程中精核与极核的融合，而长喙毛茛泽泻的极核融合过程则表现出一种独特的复杂性。联系到长喙毛茛泽泻在被子植物中处于较原始的系统位置，该特征是否可以被看作是一种原始性状的保留。由此推测，在被子植物中，中央细胞的两个极核在受精前即融合为次生核的现象是一种进化的特征；受精前两个极核紧密相靠，融合发生在受精过程中的现象相对较为原始；而极核融合发生在受精后的现象则可能是一种更为原始的特征。当然，对上述推测的验证尚需更为广泛的调查。

根据我们的观察，长喙毛茛泽泻的受精作用及胚与胚乳的发育过程均很正常，与导致该种植物濒危的原因没有内在联系。

参 考 文 献

王建波，汪小凡，陈家宽，1993．长喙毛茛泽泻繁殖特征的初步研究．武汉大学学报(自然科学版)，**1993**(6)：130—132

胡适宜，1982．被子植物胚胎学．北京：高等教育出版社，103—194

Bhojwani S S，Bhatnagar S P，1979．The Embryology of Angiosperms．3rd ed．New Delhi：Vikas Publ House，51—120

Dahlgren R M T，Clifford H T，1982．The Monocotyledons：A Comparative Study．London，New York，Paris，San Diego，San Francisco，Sao Paulo，Sydney，Tokyo，Toronto：Academic Press INC (London) LTD，197—212，287—291

Davis G L，1966．Systematic Embryology of the Angiosperms．New York：Wiley，37—38

Maheshwari P，1950．An Introduction to the Embryology of Angiosperms．New York：McGraw-Hill，181—312

Willemse M T M，Van Went J L，1984．The female gametophyte．In：Johri B M ed．Embryology of Angiosperms．Berlin，Heidelberg，New York，Tokyo：Springer-Verlag，160—196

图版说明 Explanation of plates

按照自然状态，所有照片均以珠孔端朝下方向排列

图版1 1．抵达胚囊珠孔端的花粉管；2．花粉管释放出的两个精子；3．两个精子中，一个已进入卵细胞，另一个仍在退化助细胞位置；4．进入卵细胞的精子核形态；5．另一个精子核与珠孔极核融合；6．珠孔极

核受精后向胚囊合点端移动；7. 受精的珠孔极核与合点极核靠拢，箭头示合点极核；8—9. 受精的珠孔极核与合点极核融合；10. 受精的珠孔极核与合点极核在胚囊合点端融合；11—12. 初生胚乳核在胚囊合点端分裂；13—14. 分裂后期的初生胚乳核，示形成的赤道板。(1—9,13—14. ×660；10—12. ×400)

图版2　15—16. 初生胚乳核形成的两个细胞中，合点端的胚乳细胞形态；17—18. 球状胚乳细胞和原胚分别位于胚囊合点端和珠孔端；19. 分裂后期的合子；20. 二胞原胚；21. 二胞原胚中顶细胞分裂；22. 三胞原胚；23. 三胞原胚中，中间细胞先分裂；24. 五胞原胚；25. 八分体中的八个细胞呈四层排列；26. 具硕大胚柄细胞的原胚；27. 开花后15天的胚；28. 开花后25天的胚。(15—16,19—26. ×660；17,27. ×120；18,28. ×30)

According to natural status, all of the figures were oriented with the micropylar end downwards.

Plate 1　1. Pollen tube arriving to the micropylar end of an embryo sac; 2. Two sperms discharged from a pollen tube; 3. One of the two sperms fused with egg cell, the other one located at degenerated synergid; 4. The status of a sperm nucleus in egg cell; 5. A sperm nucleus fused with the micropylar polar nucleus; 6. The micropylar polar nucleus moving to chalazal end of an embryo sac after fertilization; 7. The fertilized micropylar polar nucleus nearing to the chalazal polar nucleus, arrow showing chalazal polar nucleus; 8—9. Both polar nuclei fusing; 10. Both polar nuclei fused at the chalazal end of an embryo sac; 11—12. Primary endosperm nucleus dividing at the chalazal end of embryo sac; 13—14. Anaphase of primary endosperm nucleus, showing the formation of equatorial plate. (1—9,13—14. ×660;10—12. ×400)

Plate 2　15—16. The status of one endosperm cell located at the chalazal end after first division of primary endosperm nucleus; 17—18. A ball-like endosperm cell and an embryo respectively located at both ends of an embryo sac; 19. Zygote in anaphase; 20. A 2-celled proembryo; 21. The apical cell of the 2-celled proembryo in dividing; 22. A 3-celled proembryo; 23. The middle cell dividing in a 3-celled proembryo; 24. A 5-celled proembryo; 25. The status of octant of a proembryo; 26. A proembryo with a big suspensor cell; 27. An embryo in 15 days after bloom; 28. An embryo in 25 days after bloom. (15—16,19—26. ×660;17,27. ×120;18,28. ×30)

田惠桥等：濒危植物——长喙毛茛泽泻的受精作用及胚和胚乳的发育　　图版 1

Tian Hui-qiao *et al.* : The Fertilization and the Development of Embryo and Endosperm in an Endangered Plant——*Ranalisma rostratum* Stapf (Alismataceae) Plate 1

See explanation at the end of text

15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28

See explanation at the end of text